DNA•SAL™

Dispositif de prélèvement d'ADN Salivaire
Référence Catalogue DNAS- 102
Manuel d'utilisation

REMARQUE IMPORTANTE: Ce manuel d'utilisation contient des informations détaillées sur le prélèvement d'échantillons d'ADN utilisant le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire sous licence DNA•SAL™. Afin d'obtenir les meilleurs résultats, ces instructions doivent être strictement suivies selon le protocole fourni ici.

1. Utilisation

Le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ de Oasis Diagnostics® Corporation est utilisé pour prélever la salive contenant des cellules épithéliales afin d'en extraire l'ADN à partir d'échantillons oraux.

3. Applications

L'ADN du génome humain extrait d'une combinaison de cellules épithéliales et de globules blancs collectés avec le dispositif exclusif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ peut être utilisé dans un nombre grandissant d'applications de diagnostics. Par exemple, l'ADN est utilisé dans les tests pour les diagnostics moléculaires basés sur le test PCR (Réaction en chaîne par polymérase) pour le dépistage de maladies ou la détermination du risque de maladie, pour des applications dans les technologies à microarray, le génotypage, la génomique individuelle, de nombreuses études sur le génome, la surveillance de la progression de maladies, entre autres.
L'utilisation d'échantillons oraux pour isoler l'ADN est devenue une alternative intéressante à l'utilisation du sang ou des tissus pour un certain nombre de raisons : le prélèvement par voie orale est rapide, économique et non invasif et peut être mis en place par du personnel avec un minimum de formation. De plus, il ne nécessite aucun équipement spécial.

4. Principes de la procédure

Le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ récolte de la salive riche en ADN par le frottement de cellules à l'intérieur de la joue, grâce à une série d'aspérités en dents de scie sur la plateforme du dispositif de prélèvement. En quelques secondes une combinaison de cellules s'accumule dans les espaces vides sur la surface du dispositif DNA•SAL™. Un nombre significatif de cellules supplémentaires sont libérées et disponibles dans la salive. Après un ratissage de 30 secondes, le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ est retiré de la bouche, et une petite quantité de solution de rinçage stabilisante prédistribuée est placée dans la bouche, a partir du flacon de collecte. Cette solution [sans danger] sert a rincer la bouche pendant quelques secondes, puis est restituée (recrachée) dans le même flacon de collecte. La manche du dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™est rompue et la tête de prélèvement du dispositif est alors placée avec soin dans le flacon de collecte contenant le mélange de solution de rinçage stabilisante et de salive. Le flacon de collecte contenant l'échantillon sont alors immédiatement traités pour extraire l'ADN en vue d'applications ou envoyés vers un laboratoire distant pour isoler l'ADN.

5. Contenu du kit

Dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™
Flacon de collecte (contenant la solution de rinçage stabilisante)
Notice du produit
Conserver à température ambiante (4-30°C)

6. Instructions pas à pas

1. Attendre 10 mn après avoir mangé ou bu avant de procéder au prélèvement de l'échantillon.
2. Saliver et s'assurer que l'intérieur des joues est bien humidifié par la salive.
3. Ouvrir le flacon de collecte contenant la solution de rinçage stabilisante fournie et poser le flacon et le bouchon sur une surface plane.
4. Prendre le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SALTM et le placer dans la bouche, les aspérités pour le prélèvement perpendiculaires à l'intérieur de la joue, dirigées vers le BAS de celle-ci, là où elle rencontre la gencive.
5. Placer un doigt à l'EXTERIEUR de la gencive en appuyant fermement [pour faire une résistance] pendant le prélèvement de l'échantillon et racler les aspérités en pressant sur l'intérieur de la joue pendant au moins 30 secondes. A ce moment des cellules devraient être visibles dans la salive sur la zone de prélèvement du dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™. La visualisation effective de ces cellules et de la salive n'est pas un

prérequis étant donné que la salive contient une quantité significative de cellules dans la bouche et le tout sera ensuite récupéré par le rinçage. Le temps de frottement recommandé est d'au minimum 30 secondes.

6. Enlever le dispositif de la bouche et le garder en main.

7. Avec l'autre main, verser le contenu du flacon de collecte [2 ml de solution de rinçage stabilisante sécurisée] dans la bouche et « mastiquer » pendant 10-15 secondes. NE PAS AVALER. Après 10-15 secondes, expectorer ["re-cracher"] le mélange de solution de rinçage stabilisante et de salive dans le tube de collecte.

8. Insérer le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ avec la zone de prélèvement vers le bas dans le flacon de collecte

et DETACHER la tête du dispositif à l'entrée du tube en fléchissant la poignée vers l'arrière jusqu'à ce que la tête se détache et tombe dans le flacon [comme indiqué sur le diagramme 4 ci-dessous].

9. Jeter la poignée du dispositif et visser fermement le bouchon du flacon de collecte pour verrouiller l'échantillon.

10. Secouer le flacon de collecte [qui contient maintenant un mélange de solution de rinçage stabilisante, de salive et de cellules] vigoureusement pendant 15 secondes pour bien mélanger la solution de rinçage et l'échantillon.

11. L'échantillon est maintenant prêt à être traité immédiatement ou transporté dans un laboratoire.

1. 2. 3. 4. 5. 6.

7. Avantages du dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ et des kits d'accompagnement pour l'extraction d'ADN salivaire de Oasis Diagnostics®

Les échantillons oraux collectés avec le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SALT™ [DNAS-102] sont stables sur de longues périodes [minimum 30 [trente] jours] à température ambiante dans la solution de rinçage stabilisante de Oasis.

Prélèvement indolore, non invasif.

Haute qualité d'ADN génomique généré

Facile à utiliser

Protocole convivial pour des prélèvements éventuellement à domicile.

Adapté pour utilisation en pédiatrie ou gériatrie.

L'extraction de l'ADN peut être réalisée avec seulement 100 µl de salive/cellules grâce au dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™.

8. Données de performance

Caractéristiques de performances du dispositif de prélèvement d'ADN salivaire

La pertinence de l'ADN isolé dans les applications en aval dépend de la qualité de l'ADN extrait en quantité suffisante pour les analyses, ainsi que de la stabilité de l'échantillon assurée par l'addition d'agents stabilisants.

Dans le processus de validation, l'ADN récolté avec le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ a été évalué selon trois critères de performance : la quantité récupérée, la qualité [pureté] et la stabilité de l'échantillon, lors de séries de trois expérimentations menées par des examinateurs indépendants.

1.) <u>Quantité d'ADN isolée [avant et après extraction]</u>

Le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SALTM fournit un mélange de salive, de cellules épithéliales et de solution de rinçage stabilisante qui peuvent être facilement extraits avec un haut rendement d'ADN purifié. Le volume total de solution disponible varie d'un sujet à l'autre, mais généralement le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ fournit un minimum de 3 ml de solution à analyser.

REMARQUE : La quantité d'ADN isolé après extraction est généralement exprimée en microgrammes par millilitre [µg/ml]. A partir de cette valeur, la quantité d'ADN isolé [µg] peut être calculée facilement.

Résultats :

Les résultats suivants ont été observés sur un total de huit [n=8] échantillons :

La concentration moyenne [en µg/ml] d'ADN obtenue sur des échantillons de 500 µl avec le protocole d'isolation de l'ADN par précipitation à l'éthanol = 123.6 µg/ml.

La concentration moyenne [en µg/ml] d'ADN obtenue sur des échantillons de 400 µl avec le protocole d'isolation de l'ADN par « spin column » (colonne de centrifugation) = 62,4 µg/ml.

En utilisant un système robotisé pour la manipulation des échantillons une valeur moyenne de 27.3 µg/ml a été observée.

2.) <u>Qualité de l'ADN [pureté]</u>

La qualité de l'ADN a été évaluée en mesurant les valeurs d'absorption pour 3 longueurs d'ondes – 230 nm, 260 nm et 280 nm, puis en calculant les ratios correspondants A260/A280 et A260/A230, selon les procédures standards.

L'ADN pur a un ratio A260/A280 de 1.7- 2.0 et un ratio A260/A230 supérieur à 1.5.

La pureté de l'ADN isolé à partir d'échantillons prélevés avec le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ a été a été évaluée de façon indépendante en utilisant huit [n=8] échantillons prélevés et conservés dans la solution de rinçage stabilisante de Oasis Diagnostics® fournie avec chaque dispositif avant analyse.

L'évaluation de la pureté a été faite suite à l'isolation de l'ADN suivant la méthode d'extraction par fixation de l'ADN (spin column (colonne de centrifugation)), puis adaptation sur un système robotisé (QuiCube, Quiagen, Allemagne) pour la manipulation des échantillons.

Résultats :

Moyenne A260/A280 observée (n=8) = 1.83 Moyenne A260/A230 observée (n=8) = 2,67

REMARQUE : La qualité de l'ADN isolé dépend fortement de la méthode d'isolation utilisée [méthodes par précipitation à l'éthanol ou par fixation de l'ADN, ou extraction par microplaque 96 multi-puits], mais varie également d'un fabricant de kit à l'autre. Il est donc recommandé d'utiliser une méthode optimisée pour l'isolation de l'ADN dans la salive et/ou les cellules buccales. Pour plus d'information, veuillez contacter Oasis Diagnostics® ou son mandataire BBTpartners

3.) Stabilité

Afin d'évaluer la stabilité des échantillons de salive prélevés avec le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™, trois (3) échantillons ont été prélevés selon les instructions fournies auparavant dans la section 6. Après rinçage de la bouche avec la solution de rinçage stabilisante, la solution a été expectorée [« re-crachée »] dans le flacon de collecte fourni et stockée à température ambiante [15 -30°C]. Plusieurs échantillons de ce spécimen ont été testés immédiatement [jour 0] puis ensuite à 1, 3, 5, 10, 20 et 30 jours pour vérification de la dégradation de l'ADN avec des gels d'agarose / électrophorèse sur gel. Aucun des échantillons n'a montré de dégradation, y compris à 30 jours, indiquant que la solution de rinçage stabilisante confère une stabilité de 30 jours minimum à l'ADN.

4.) Application au test PCR (Réaction en chaîne par polymérase)

Afin de tester la pertinence de l'ADN isolé pour des tests en aval, l'ADN provenant d'échantillons de salive prélevés avec le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ a été utilisé en parallèle d'ADN sanguin, isolé avec le kit Gen Xtrat de ViennaLab Diagnostics [Vienne, Autriche], dans deux kits de tests PCR par transcriptases inverses StripAssay® pour alpha-thalassémie et hémochromatose. Dans les deux cas le protocole utilisé était fourni par le fabricant.

Le test StripAssay® donne des résultats visuels et dans cette étude expérimentale les résultats observés pour chaque test étaient les mêmes pour la salive et le sang, confirmant ainsi que le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™combiné à une isolation de l'ADN à l'aide d'un kit d'extraction connu, est une méthode de purification des échantillons acceptable comme étape initiale du processus de test par PCR.

9. Précautions :

Veuillez observer les précautions suivantes lors du prélèvement des échantillons avec le dispositif de prélèvement d'ADN salivaire DNA•SAL™ :

1. Assurez-vous que le flacon de collecte contenant la solution de rinçage stabilisante est placé sur une surface plane.
2. En fermant le flacon de collecte, assurez-vous que le couvercle est fermement vissé.
3. Evitez d'introduire des objets étrangers dans le flacon de collecte après l'avoir ouvert.

10. Assistance technique

Pour toute assistance technique : contacter BBTpartners, 20 Passage de la Bonne Graine. tel : 0153348701, par courriel a : jpbonn@bbtpartners.com. Alternativement contacter Oasis Diagnostics® Corporation .
tel : +1 (360) 546-1563, courriel : info@4saliva.com

Référence Catalogue

DNAS-102

www.4saliva.com

Oasis Diagnostics Corporation 15720 N. E. 31st Avenue Vancouver, WA 98686 USA
BBTpartners, 20 Passage de la Bonne Graine, 75011, Paris, France

Avertissement légal

Fiches de données de la sécurité du matériel

Les fiches de données de la sécurité du matériel pour les composants chimiques du kit sont disponibles auprès de BBTpartners
Oasis Diagnostics® Corporation



Légende des symboles utilisés

REF	Référence
LOT	Numéro de lot
	Date d'expiration
	Conserver à
EC REP	Mandataire
	Fabricant
	Ne pas réutiliser
	Consulter les Instructions d'utilisation



15720 NE 31st Avenue
Vancouver, WA 98686 USA



20 Passage de la Bonne Graine
75011 Paris, France